Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 17 (1926)

Heft: 3-4

Artikel: Technik der Mikrophotographie

Autor: Staub, W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-984175

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Technik der Mikrophotographie.

Von Dr. STAUB, Bern-Liebefeld.

Zur erfolgreichen Ausübung der Mikrophotographie sind zwei Voraussetzungen erforderlich:

- 1. ausreichende Erfahrungen in der gewöhnlichen Photographie oder Makrophotographie;
- 2. die Kenntnis der mikroskopischen Technik und der zu ihrer Ausübung notwendigen Apparate.

Der auf diesem Gebiete sich Betätigende wird wohl in den meisten Fällen der ersten Anforderung genügen. Anders verhält es sich in Bezug auf die Kenntnisse der zur mikroskopischen Technik notwendigen Apparate, insbesondere des Mikroskopes und seiner Anwendung bei mikrophotographischen Aufnahmen. Es sei mir daher gestattet auf den zuletzt erwähnten Punkt kurz einzutreten.

Für die vergrösserte Wiedergabe kleiner und kleinster, d. h. mikroskopischer Objekte, steht dem Mikrophotographen ein reichhaltiges Material an photographischer und mikroskopischer Optik zur Verfügung. Je nach der Art des aufzunehmenden Objektes wird er bald nach dem einen, bald nach dem andern dieser Systeme greifen müssen. Diese für mikrophotographische Aufnahmen in Betracht fallenden optischen Systeme sollen im folgenden kurz behandelt werden.

Zur Aufnahme grösserer Uebersichtspräparate im durchfallenden Licht, oder erhabener Objekte bei auffallendem Licht, d. h. Aufnahmen bei ganz schwacher Vergrösserung, verwendet man mit Vorteil die sogenannten Mikroplanare, Mikrosummare und Summare (der Firmen Zeiss und Leitz). Es sind dies chromatisch, sphärisch und astigmatisch hochvollendet korrigierte, mit Irisblende versehene Objektive mit hoher relativer Oeffnung, F:4,5. Die Brennweiten dieser Objektive liegen zwischen 20 und 120 mm. Diese Objektive werden meistens direkt an das Stirnbrett der Kamera angeschraubt. In den meisten Fällen wird man mit 2 bis 3 Objektiven dieser Art auskommen. Man wird sich z. B. an die Brennweiten 24, 42 und 80 mm halten. Zur Beleuchtung der Präparate im durchfallenden Licht verwendet man mit Vorteil den Brennweiten dieser Objektive angepasste Brillenglaskondensoren. Sobald wir aber Aufnahmen bei mittelstarken und starken Vergrösserungen vornehmen wollen, sind wir auf die Mikroskopoptik angewiesen.

Wie jedem Mikroskopiker bekannt sein dürfte, unterscheidet man bei den Objektivsystemen drei Hauptgruppen. Es sind dies die Achromate, die Apochromate und die Fluoritsysteme. Die Gesamtheit der Eigenschaften auf die es bei einem Objektiv ankommt, bezeichnet man als sein optisches Vermögen. Es setzt sich zusammen aus dem Vergrösserungsvermögen, dem Auflösungs- oder Abbildungsvermögen und dem Begrenzungs- oder Zeichnungsvermögen. Sowohl bei der subjektiven Betrachtung, als auch bei der bildlichen Wiedergabe unserer Präparate ist nicht das Vergrösserungsvermögen das Wesentliche — es ist darauf besonders Nachdruck zu legen — sondern das Auflösungs- oder Abbildungsvermögen. Was wir vor allem wünschen, ist die Sichtbarmachung der feinsten Struktureinzelheiten des Objektes, die auch im Bilde klar und deutlich hervortreten müssen. Das Auslösungsvermögen, auf das wir bei der photographischen Wiedergabe den Hauptwert zu legen haben, wird nur durch das zur Anwendung kommende Objektiv bedingt, nicht durch das Okular, dem nur die Aufgabe zufällt, das in seiner Blendebene projizierte reelle Bild des Objektes weiter zu vergrössern. Das Vergrösserungsvermögen spielt nur insofern eine Rolle, als gewisse bereits im Bilde vorhandene Einzelheiten erst von einer bestimmten Vergrösserung an deutlich erkennbar werden.

Der photographischen Wiedergabe mikroskopischer Präparate sind nun leider gewisse Grenzen gesteckt. Die deutliche Wahrnehmung der einzelnen Elemente eines Objektes von nur einiger Dicke steht nämlich in engster Beziehung mit der als Sehtiefe oder Tiefenzeichnung bezeichneten Eigenschaft der Objektive. Die Sehtiefe der Objektive ist im allgemeinen als sehr gering zu bezeichnen. Bei der subjektiven Beobachtung tritt diese Eigenschaft der Mikroskopobjektive nicht so störend in Erscheinung, da wir vermittelst der Mikrometerschraube die verschiedenen Ebenen des Präparates nacheinander scharf einstellen können. Gegen kleine Fehler der Strahlenvereinigung ist unser Auge unempfindlich und es verfügt zudem über das sogenannte Akkomodationsvermögen, wodurch die verschiedenen Ebenen eines Präparates in kürzester Zeit scharf auf die Netzhaut unseres Auges eingestellt werden. In der Mikrophotographie fallen diese beiden Momente weg. Um dem mikroskopischen Bilde eine möglichst gute Tiefenschärfe zu geben, sind wir daher allein auf eine gerade noch ausreichende Vergrösserung, oder Beschränkung der num. Apertur angewiesen. Je stärker die Vergrösserung eines Objektives ist, desto geringer ist die Sehtiefe. Man wird daher in allen Fällen, in denen eine geringe Sehtiefe verlangt wird, z. B. bei der Aufnahme histologischer Präparate, nur solche Vergrösserungen wählen, die noch eine deutliche Erkennung der Einzelheiten im Präparat ermöglichen. Die Tiefenschärfe lässt sich zudem bei mittleren und starken Vergrösserungen dadurch steigern, dass man engere Strahlenkegel, d. h. eine kleinere Apertur anwendet, von der Tatsache ausgehend, dass die Tiefenschärfe in umgekehrtem Verhältnis zu der num. Apertur steht. Den durch die Sehtiefe bedingten Schwierigkeiten beim Photographieren bei relativ starken Vergrösserungen müssen wir weiter durch sorgfältigste Herstellung und Auswahl unserer Präparate begegnen. Die mikroskopi-

schen Präparate sollten daher eine möglichst geringe Dicke aufweisen. Nach Abbe wird die Leistungsfähigkeit eines Linsensystems in Bezug auf das Aufnahmevermögen von Strahlen ausgedrückt durch die allgemein bekannte Formel n. sin u = num. Apertur, wobei n der Brechungsindex des zwischen dem Deckglas des Präparates und der Frontlinse des Objektives befindlichen Mediums, u der halbe Oeffnungswinkel des Systems ist. Von der num. Apertur sind nun eine ganze Reihe wichtiger Eigenschaften des Mikroskopes abhängig. Eine derselben, die Sehtiefe, wurde bereits kurz gestreift. Von der Tatsache ausgehend, dass das Abbildungsvermögen des Mikroskopes einzig und allein im Objektiv seinen Sitz hat, entstehen bei der Verwendung stärkerer Okulare, oder bei zunehmender Entfernung der Mattscheibe der mikrophotographischen Kamera im projizierten Bilde keine neuen Einzelheiten, dieselben werden nur auf einen grösseren Bildwinkel auseinander gezerrt. Eine Vergrösserung, die über die sogenannte förderliche hinausgeht, wird daher als leere Vergrösserung bezeichnet. Was die Helligkeit des mikroskopischen Bildes anbetrifft, so kann sie unter keinen Umständen und durch keine Zusammenstellung des optischen Systems grösser werden als die Leuchtkraft des beobachteten Gegenstandes (sogenannte Maximalhelligkeit). Damit will ich zu denjenigen Eigenschaften unserer optischen Systeme übergehen, deren Kenntnis zu erfolgreichem mikrophotographischen Arbeiten ebenfalls erforderlich ist.

Die verschiedenen eingangs erwähnten Objektivsysteme und auch die Okulare zeichnen sich durch den mehr oder weniger hohen Grad der Farbenkorrektion und Bildebnung, der bei ihnen erreicht ist, aus.

Für allgemein wissenschaftliche und praktische Untersuchungen besitzen die Achromate noch ihre volle Bedeutung. Diese Objektive haben in neuerer Zeit, infolge der Fortschritte der Glastechnik, wesentliche Verbesserungen in der sphärischen und chromatischen Korrektion, sowie in der Bildebnung erfahren. Sie eignen sich somit auch zur Herstellung von Mikrophotogrammen recht gut, unter der Bedingung, dass man mit monochromatischem Licht arbeitet. Die Objektive vereinigen nicht alle Farbenstrahlen in einer Ebene, so dass verschiedene Bilder übereinander entstehen, von denen jedes eine andere Grösse hat. Die blauen Strahlen erzeugen das Grösste, die roten Strahlen das kleinste Bild. Das Auge bemerkt diese verschiedenfarbigen Bilder nicht, sondern nimmt nur das hellste Bild wahr, das durch die Vereinigung von gelben und grünen Strahlen erzeugt wird. Die photographische Platte hingegen ergibt bei zusammengesetztem Licht ein ganz unbefriedigendes Bild, indem die verschieden grossen Teilbilder ein in seinen Konturen unscharfes Gesamtbild erzeugen. Bei den Achromaten sind durch die Korrektion nur zwei Spektralfarben auf die gleiche Brennweite gebracht. Diese Systeme sind aber, trotzdem man sie als achromatisch bezeichnet, nicht vollständig farbenfrei, sie zeigen noch die sogenannte sekundäre Farbenabweichung, so dass sie nicht ohne weiteres für die Mikrophotographie zu gebrauchen sind. Bei den als Achromate bezeichneten Mikroskopobjektiven werden diejenigen Strahlengattungen zur Vereinigung gebracht, die dem Auge am hellsten erscheinen, also die gelb-grünen, zwischen D und E des Spektrums liegenden Strahlen, währenddem die Strahlen nach Rot und Violett zu unberücksichtigt bleiben. Nun ist aber die photographische Platte für die blauen und violetten Strahlen viel empfindlicher als für die grünen und gelben. Stellt man daher auf der Mattscheibe des mikrophotographischen Apparates ein Bild für das Auge scharf ein und macht dann die Aufnahme, so ergibt sich auf der Platte ein unscharfes Bild, indem die chemisch wirksamen blauen und violetten Strahlen auf der Platte einen viel stärkeren Lichteindruck zurücklassen als auf unser Auge. Der Unterschied zwischen dem für das Auge scharfen Bild und dem auf der Platte entstehenden nennt man die Fokusdifferenz.

Die apochromatischen Objektive zeichnen sich im Unterschied zu den Achromaten durch ihren hohen Grad der Farbenkorrektion aus. Durch Einführung ganz neuer von Schott in Jena hergestellter Glassorten und durch Verwendung von Flusspat bei der Herstellung einzelner Linsen, lässt sich eine Vereinigung der Schnittweiten von mindestens drei optisch wirksamen Strahlen verschiedener Farben erreichen, während dies bei den Achromaten, wie wir gesehen haben, nur für zwei Strahlen möglich war. Diese Vereinigung der Strahlen von mehr als zwei Farben hatte zur Folge, dass der den bisherigen Objektiven anhaftende, noch nicht zu korrigierende Farbenrest, der wie oben erwähnt als sekundäres Spektrum bezeichnet wird, vollständig getilgt werden konnte. Alle Objektive, gleichviel, ob es sich um Achromate, Apochromate oder Fluoritsysteme handelt, zeigen noch einen weiteren, als «chromatische Differenz der Vergrösserung» bezeichneten Farbenfehler für die ausserachsialen Teile des Sehfeldes. Entwirft man mit solchen Objektiven ein Bild ohne Okular, oder betrachtet man das Bild mit einem der gewöhnlichen Okulare, so bemerkt man Farbensäume, die nach dem Rande des Sehfeldes zu wachsen. Zur Beseitigung dieses Fehlers wurden die sogenannten Kompensationsokulare eingeführt, die so konstruiert sind, dass sie ihrerseits den entgegengesetzten Fehler in gleichem Betrage haben. Dadurch kompensieren sie die besprochenen Farbfehler der Objektive, so dass das Bild bis zum Rande des Sehfeldes farbenrein erscheint. Die Apochromate lassen sich daher in Verbindung mit den ebenfalls weitgehend korrigierten Kompensationsokularen ohne Anwendung von Farbfiltern für die Mikrophotographie verwenden, währenddem mit den Achromaten nur unter Anwendung von Farbfiltern absolut scharfe Bilder erhältlich sind.

Die Fluoritsysteme sind eine Art Bindeglied zwischen den Achromaten und den Apochromaten, man bezeichnet sie daher auch als Semioder Halbapochromate. In Bezug auf Leistungsfähigkeit stehen sie den Apochromaten kaum nach. Der Unterschied gegenüber den Achromaten

liegt darin, dass man auch bei diesen neuen Konstruktionstypen Linsen aus Flusspat verwendet (daher die Bezeichnung Fluoritsysteme). Sie unterscheiden sich von den letztern nur durch einen sehr geringen Rest des sekundären Spektrums, der aber praktisch kaum in Erscheinung tritt. Die Kompensationsokulare und periplanatischen Okulare (der Firma Leitz) werden mit Vorteil auch für die Fluoritsysteme verwendet, an Stelle der gewöhnlichen Okulare.

Was nun die Wahl der Objektive zur Mikrophotographie anbetrifft, so lässt sich die Frage nicht ohne weiteres beantworten, welche dieser Objektivkonstruktionen für die photographische Wiedergabe von Präparaten sich am besten eignet. Jedes dieser Objektivsysteme hat nach dieser Richtung hin verwendet seine Vor- und Nachteile. Der Hauptnachteil der Achromate für die Photographie ist in der ihnen anhaftenden Fokusdifferenz begründet, die zur Folge hat, dass die chemisch wirksamen Strahlen mit denen dem Auge am hellsten erscheinenden nicht zusammenfallen, so dass das auf der Mattscheibe scharf eingestellte Bild auf der photographischen Platte unscharf erscheint. Dies gilt aber nur dann, wenn zur Beleuchtung weisses oder blaues Licht verwendet wird. Durch geeignete Farbfilter lassen sich aber die kurzwelligen Strahlen vollständig zurückhalten, womit auch die Fokusdifferenz beseitigt ist. Zur Erhöhung des Kontrastes der Bilder verwendet man ohnehin solche Filter, und es fällt damit dieser Uebelstand der Fokusdifferenz fast durchwegs ausser Betracht. Die Strahlenvereinigung der verbesserten Achromate, wie sie jetzt überall in den Handel kommen, ist im übrigen eine so vorzügliche, dass die mit Achromaten hergestellten Bilder den mit Apochromaten erzeugten Bildern an Schärfe und Güte kaum nachstehen. Ein weiterer für die Mikrophotographie nicht zu unterschätzender Vorteil der Achromate ist die geringe Wölbung des Gesichtsfeldes dieser Objektive, so dass man einen weit nach dem Rande der Bilder hin scharfen Bereich erhält. Zudem lassen sich die Achromate auch ohne Okular verwenden. Ein gutes Grünfilter ist aber immer unbedingt notwendig. Die Verwendung des Objektives allein geschieht nach Herausschrauben des Okularstutzens aus den mit weitem Tubus versehenen Mikroskopen und hat den Vorteil, ein grosses Gesichtsfeld zu liefern.

Die Apochromate und Fluoritsysteme sind infolge der vollkommenen Farbenkorrektion den Achromaten überlegen, sie liefern daher mit monochromatischem und weissem Licht gleich gute Bilder. Auch ist ein Farbfilter nicht notwendig, falls nicht die Farbe des Präparates es erfordert. Man wird die Apochromate in solchen Fällen verwenden, in denen kein Filter zur Anwendung kommen darf, z. B. bei mikrophotographischen Aufnahmen im polarisierten Licht, oder bei spektroskopischen Aufnahmen. Das gleiche gilt natürlich auch für die Farbenphotographie. Wo es sich um die Auflösung feiner Strukturen handelt, z. B. bei Diatomeenpräparaten, sind hohe Aperturen und kurzwelliges Licht erforderlich.

Bei der Beleuchtung mit blauem Licht ist man daher auf die Apochromate angewiesen. Der einzige Nachteil dieser Objektivsysteme liegt in ihrer starken Bildwölbung, so dass man in der Photographie in der Bildebene nur eine eng begrenzte scharfe Zone erhält.

In der Mikrophotographie spielt die richtige Beleuchtung des aufzunehmenden Objektes eine ganz wesentliche Rolle. Die besten Linsensysteme und die wirksamsten Lichtquellen sind wertlos, wenn man es nicht versteht, dem Objekt die Strahlen in der richtigen Weise zuzuführen. So musste mit der Entwicklung der Objektive diejenige der Beleuchtungsapparate Hand in Hand gehen, um die hohe num. Apertur der Oelimmersionen richtig auszunützen. Es bedurfte Kondensoren von ebenfalls hoher Apertur. Diese Kondensoren mit entsprechend kurzer Brennweite vermögen aber nur das Sehfeld der stärkeren Mikroskopobjektive gleichmässig zu beleuchten. Bei Aufnahmen mit schwachen Objektiven, oder mit Projektionssystemen zur Herstellung von Uebersichtsbildern (den Planaren und Summaren etc.), müssen Kondensoren mit längerer Brennweite zur Anwendung kommen. Für mittelstarke und schwache Objektive verwendet man die sogenannten Brillenglaskondensoren. Die meist gebräuchlichen zwei- und dreilinsigen Beleuchtungsapparate mit den Aperturen 1,0 und 1,4 eignen sich nicht sehr gut für photographische Zwecke wegen ihres Mangels an sphärischer und chromatischer Korrektur und infolge ihrer kurzen aequivalenten Brennweite. Sie liefern kein scharfes Lichtquellenbild, was zu allerhand störenden Reflexen führt. Für die Bedürfnisse der Mikrophotographie konstruieren daher die bekannten Firmen chromatische und aplanatische Kondensoren, die eine wesentlich bessere Strahlenvereinigung aufweisen. Bei diesen Kondensoren lassen sich die Frontlinsen entfernen, so dass man sie mit Vorteil als sogenannte Brillenglaskondensoren für Objektive von kleiner Apertur gebrauchen kann. Chromatisch ist der aplanatische Kondensor nicht ausgeglichen, was jedoch bei Aufnahmen im einfarbigen Licht nicht notwendig ist. Die Firma Leitz liefert neuerdings einen für die Mikrophotographie sphärisch und chromatisch korrigierten Kondensor von der num. Apertur 1,4, der in Bezug auf Konstruktion und Linsenzahl einem Immersionsobjektiv ähnlich sieht. Die einzelnen Glieder sind zur Verwendung mit starken, mittleren bezw. schwachen Objektiven ebenfalls auseinanderschraubbar.

Bei Beleuchtung mit engen Strahlenkegeln wird die Tiefenzeichnung der Objektive und die Ebenheit des Gesichtsfeldes wesentlich gehoben, oder umgekehrt: je grösser der Oeffnungswinkel des beleuchtenden Strahlenkegels ist, umso schneller nimmt die Schärfe des projizierten Bildes von der Mitte nach dem Rande hin ab. Es fällt dies bei der subjektiven Beobachtung weniger auf, indem durch Verwendung der Mikrometerschraube und durch gleichzeitige Akkomodation des Auges ein Ausgleich zwischen den mittleren und seitlichen Teilen des Gesichtsfeldes statt-

findet. Die Blenden, die einen wesentlichen Bestandteil des Beleuchtungsapparates bilden, sei es, dass sie zwischen dem Spiegel und Kondensor, oder in den Kondensoren selber zwischen den Linsen eingeschaltet sind, ermöglichen es, der Apertur des Beleuchtungskegels jeden beliebigen Wert zu geben, wobei die Grösse der Apertur proportional der Blendenöffnung ist. Je nach dem zur Anwendung gelangenden Objektiv muss mit Hilfe der Irisblende der Winkel des Beleuchtungskegels dem jeweils vorliegenden Präparat angepasst werden. Wird durch zu weite Oeffnung der Irisblende der Beleuchtungskegel zu breit genommen, so entstehen in dem Präparat Beugungserscheinungen, wodurch das Bild verschwommen erscheint; bei zu engen Beleuchtungsbüscheln treten dagegen ein häufiger Fehler auf Mikrophotogrammen — helle Diffraktionssäume auf, welche im Bilde alle Linien als Doppelkonturen umgeben und recht störend wirken. Daraus geht hervor, dass für jeden einzelnen Fall genau ermittelt werden muss, welcher Beleuchtungskegel das vollkommendste Bild liefert. Im allgemeinen ist bei der Mikrophotographie die Beleuchtung so zu wählen, dass ungefähr ein Drittel von der freien Oeffnung des Objektives mit Licht erfüllt ist. Um dies zu ermitteln, blickt man nach Herausnahme des Okulars in den Tubus hinein, wobei eine auf den Tubus gelegte enge Blende zur Fixierung des Auges dienen kann. Es lässt sich dann ohne weiteres beobachten, welcher Teil der freien Objektivöffnung mit Licht erfüllt ist. Durch Auflegen einer Lupe auf den kleinen hellen Kreis im Augenpunkte des Okulars lässt sich dieses Verhältnis auch ohne Herausnahme des Okulars feststellen. Beim Photographieren mit schwachen und mittelstarken Trockensystemen verwendet man mit Vorteil als Kondensoren auch die gewöhnlichen Mikroskopobjektive, die ja chromatisch und sphärisch korrigiert sind. Sie werden in eigens hiezu konstruierten Centrierfassungen an Stelle der gewöhnlichen Kondensoren in den Beleuchtungsapparat nach Abbe eingesetzt. Als Kondensorobjektiv wählt man ein solches, dessen Apertur etwa um zwei Drittel kleiner ist als die des abbildenden Objektives, z. B. die nächst kleinere Objektivnummer. Die Apertur des Kondensors soll also die des Objektives nicht übertreffen. Auch bei mikrophotographischen Aufnahmen gefärbter Präparate wird man nur selten mit voller Apertur arbeiten. Man wird vielmehr die Blende so weit schliessen, dass nur etwa 1/3 der Objektivöffnung beim Hineinblicken in den Tubus, nach Herausnahme des Okulars, mit Licht erfüllt erscheint. Man erhält auf diese Weise kontrastreichere Bilder und vermindert gleichzeitig damit die Bildkrümmung. Die Einengung des Beleuchtungskegels ist das einzige Mittel das wir haben, um das Bild zu ebnen und auch die Tiefenzeichnung des Objektivs zu erhöhen. Es lassen sich aber kaum allgemeine Vorschriften geben über die Wahl der Blendenöffnung. Man wird sich im allgemeinen bei der Wahl der Blendenöffnung nach dem anzuwendenden Objektiv und nach der Natur des Präparates zu richten haben, wobei die Erfahrung im Mikrophotographieren einem jeweils das Richtige finden lassen muss.

In Bezug auf die Projektion des Bildes wäre noch folgendes kurz zu erwähnen. Es ist jedem Mikroskopiker bekannt, dass die Objektive für eine ganz bestimmte Tubuslänge berechnet sind. So sind z. B. die Objektive der Firmen Zeiss und Reichert für eine Tubuslänge von 160 mm berechnet, währenddem bei den Instrumenten der Firmen Leitz, Winkel, Seibert, die Tubuslänge 170 mm beträgt. Bei Verwendung eines Revolvers oder eines Objektivschlittenwechslers am Mikroskop ist stets darauf zu achten, dass die Höhe dieser Wechselvorrichtungen der Objektive in Mitrechnung gezogen wird, durch entsprechende Verkürzung des Tubusauszuges zur Erzielung der vorgeschriebenen optischen Tubuslänge. Wird dies unterlassen, so sinken die vollkommensten Objektive in ihrer Leistungsfähigkeit unter das Mittel der gewöhnlichen Objektive. Das mikroskopische Bild entsteht in der als optische Tubuslänge bezeichneten Entfernung, gemessen von der hintern Brennweite des Objektivs bis zur vordern Brennebene des Okulars. Nur an dieser Stelle zeigt das Bild grösste Vollkommenheit. Bei der Mikrophotographie und Projektion soll aber das Bild in weit grösserer Entfernung auf der Mattscheibe, bezw. photographischen Platte oder dem Projektionsschirm projiziert werden. Bei Objektiven mit höherer Apertur ist dies aber nicht möglich, ohne dass eine beträchtliche Verschlechterung des Bildes infolge der sphärischen Aberration auftritt. Man wird daher nur bei der Verwendung schwacher achromatischer Objektive und bei mässigem Kameraauszug ohne Okular photographieren. Da man zudem bei der Verwendung von Achromaten ausschliesslich mit einfarbigem Licht arbeitet, so fallen auch die infolge mangelhafter chromatischer Korrektion entstehenden Fehler wie Farbensaum weg. Die Projektionsweite soll nicht über 75 cm betragen. In der weitaus grösseren Zahl der Fälle, sobald es sich um stärkere Vergrösserungen handelt, wird man mit dem Okular projizieren müssen. Streng genommen müsste die photographische Platte an die Stelle des durch das Objektiv in der Blendenebene des Okulars entworfenen reellen Bildes gebracht werden, oder dann dieses Bild durch die Okularlinse des Projektionsobjektives weiter nach hinten auf die Mattscheibe projiziert werden. Das erste ist natürlich praktisch nicht möglich, das zweite deshalb nicht ohne weiteres möglich, da die Okularlinse bei den gewöhnlichen Objektiven nicht verschiebbar ist. Die sogenannten Messokulare mit einlegbarem Mikrometermasstab sind zu einer derartigen Verschiebung der Augenlinse eingerichtet. Durch diese Verschiebung wird erreicht, dass das bei subjektiver Beobachtung innerhalb der einfachen Brennweite der Augenlinse in der Blendenebene des Okulars liegende Bild zwischen einfacher und doppelter Brennweite entsteht. Unter diesen Bedingungen kann dann ein reelles Bild auf der zwischen doppelter Brennweite und Unendlichkeit liegenden Mattscheibe entstehen. Da aber die gewöhnlichen Okulare nur eine einfache Linse mit den ihr anhaftenden störenden Fehlern besitzen, müssten diese Augenlinsen zur Hebung dieser Fehler stark abgeblendet werden, mindestens um 1/3. Die bekannten Firmen haben daher spezielle, für die Mikrophotographie zu gebrauchende Projektionsokulare hergestellt, deren Frontlinse ein kleines anastigmatisches Projektionssystem darstellt. Aber auch von diesen Projektionssystemen scheint man neuerdings Umgang nehmen zu können. So schreibt Leitz in seiner zuletzt erschienenen Gebrauchsanweisung zum neuen mikrophotographischen Apparat «Uma»: «Wir empfehlen für Mikrophotographie keine speziellen Projektionsokulare mehr, da sich ebenso gute Aufnahmen mit unseren Huyghens'schen und periplanatischen Okularen erzielen lassen. Da die stärkeren Objektive sehr empfindlich auf richtige Einhaltung der Tubuslänge sind, so ist stets darauf zu achten, dass der Tubusauszug bei Mikroskopen ohne Revolver auf 170 und bei Instrumenten mit Revolver auf 152 eingestellt wird, während die schwächeren Objektive so unempfindlich gegen genaue Einhaltung der Tubuslänge sind, dass es insbesondere mit den Systemen 1 und 1 b ohne weiteres angängig ist, auch ohne Okular zu arbeiten. Von Objektiv 3 an empfiehlt sich die Anwendung unserer periplanatischen Okulare».

Bei der Verwendung schwacher Okulare (mit nicht verschiebbarer Augenlinse), also der gewöhnlichen Huyghens'schen Okulare, sowie der schwachen Kompensationsokulare erhält man die besten Bilder, wenn man zum Ausgleich der bei der Projektion entstehenden Verschlechterung der sphärischen Korrektion den Tubus um einen gewissen Betrag verlängert. Die erforderliche Verlängerung beträgt nach Zeiss für die Huyghens'schen Okulare Nr. 1, 2 und 3 30, 15 und 5 mm, für die Kompensationsokulare Nr. 2 und 4 (nach der alten Bezeichnung) 40 resp. 10 mm. Die stärkeren Okulare, sowohl die Huyghens'schen als die Kompensationsokulare werden mit der normalen Tubuslänge von 160 mm benützt. Bei Anwendung eines gewöhnlichen Okulars kann die Projektion des Bildes noch in der Weise erfolgen, dass man an Stelle des Auges ein nicht zu lang brennweitiges, gut korrigiertes photographisches Objektiv bringt, z. B. ein Doppelanastigmat von 12 bis 15 cm Brennweite und damit die Aufnahme macht. Die lichtdichte Verbindung zwischen Objektiv und Mikroskop lässt sich leicht durch einen Tuchärmel herstellen. Die Vergrösserung ist bei diesem Vorgehen ungefähr die gleiche wie ohne eingeschaltetes Objektiv, d. h. mit dem Okular allein.

Damit will ich zu den bei der Mikrophotographie zu verwendenden Lichtquellen übergehen. Wenn auch die Sonne infolge der reichlich vorhandenen Menge an kurzwelligen Strahlen die idealste Lichtquelle darstellt, so verwendet man trotzdem zur Beleuchtung der Objekte bei mikrophotographischen Aufnahmen fast ausschliesslich künstliches Licht. Die künstlichen Lichtquellen haben in neuerer Zeit solche Verbesserungen erfahren, dass sie in allen Fällen genügen. Das Petroleumlicht, das Spiritus- und Gasglühlicht und das Kalklicht kommt für unsere Zwecke kaum mehr in Betracht, seitdem fast überall die elektrische Kraft eingeführt worden ist. Die Lichtquellen, die für uns hauptsächlich in Frage kommen, sind: das elektrische Bogenlicht, das Nernstlicht, der elektrische Funke, das Quecksilberlicht und das Glühlampenlicht. Die in der Mikrophotographie verwendete Lichtquelle soll möglichst gleichmässig und mit unveränderter Leuchtfläche brennen. Wo Gleichstrom vorhanden ist, wählt man mit Vorteil die Bogenlampe und zwar mit wagrecht liegender positiver Kohle, da durch diese Anordnung der lichtgebende Krater vollständig frei liegt. Die verschiedenen bekannten Firmen konstruieren, speziell für Projektionszwecke, kleine 4-5 Amp.-Bogenlampen mit und ohne Regulierwerk, die unter Anwendung eines kleinen Vorschaltwiderstandes an jede Lichtleitung angeschlossen werden können. Weit weniger eigneten sich bis vor kurzem die elektrischen Glühlampen, infolge der weiten Entfernung der einzelnen Glühfäden und ihrer geringen Dicke. Die Glühlampenfabriken (Osram-Lampenfabrik) konstruieren in neuester Zeit Lampen mit möglichst konzentriertem Leuchtkörper für die Kinematographie und Projektionen, die sich für die Mikrophotographie ebenfalls recht gut eignen (Niedervoltlampen und Punktlichtlampen). Das Bogenlicht stellt die hellste künstliche Lichtquelle dar. Bei der Verwendung von Bogenlampen befindet sich der leuchtende Krater meist im Brennpunkte eines Kondensors, der parallele Strahlen aussendet. Das Lichtbüschel wird dann durch eine zweite Linse zu einem Lichtbild gesammelt, das so weit vor dem Hilfskondensor (Mikroskopkondensor nach Abbe oder ein an seine Stelle gesetzter Brillenglaskondensor) liegt, dass es nach Divergenz der Strahlen ihn in der gewünschten Apertur ausfüllt. Bei der Aufnahme mit Planaren, Mikrosummaren etc. verwendet man als Hilfskondensoren Brillenglaskondensoren, deren Brennweiten sich nach der des Aufnahmeobjektivs richten müssen. In der Mikrophotographie verwendet man aus naheliegenden Gründen zur Beleuchtung des Präparates in den wenigsten Fällen direkt die Lichtquelle als solche, sondern meist das durch einen Kondensor erzeugte Lichtquellenbild. Auf diese Weise kann die Beleuchtung viel genauer der Apertur des jeweils zu verwendenden Objektives angepasst werden. Gleichzeitig werden auch infolge des grösseren Lampenabstandes die Wärmestrahlen in weitgehendem Masse von der Mikroskopoptik abgehalten. In manchen Fällen wird man vorsichtshalber neben den Filtercuvetten noch solche mit Wärme absorbierenden Flüssigkeiten einschalten. Für Gleichstrom geeignet sind ausser der Bogenlampe die Quecksilberlampe. Die Quecksilberdampflampe, die sehr reich an kurzwelligen blauen und violetten Strahlen ist, dürfte hauptsächlich dann in Betracht fallen, wenn es sich um die photographische Wiedergabe von Objekten handelt, die eine sehr feine Struktur besitzen und daher schwer aufzulösen sind. Von der Intensität des Lichtes ist natürlich die Länge der Belichtung abhängig. Es ist aber unrichtig zu glauben, dass mit sehr intensivem Licht sich feinere Struktureinzelheiten abbilden lassen als bei weniger intensiver Beleuchtung. Dieses Auflösungsvermögen steht ausser der Apertur des Objektives allein mit der Reichhaltigkeit des Lichtes an kurzwelligen Strahlen in Zusammenhang.

In enger Beziehung zu der Lichtquelle stehen die Lichtfilter, in deren richtiger Anwendung ein ganz wesentliches Moment für den Erfolg beim mikrophotographischen Arbeiten liegt. Schon eingangs dieser Ausführungen wurde erwähnt, dass die Achromate zur Tilgung der Fokusdifferenz, d. h. zur Aufhebung des nicht völlig behobenen Restes der achromatischen Abweichungen unbedingt ein Farbfilter, in erster Linie ein Grünfilter erfordern. Das Lichtfilter wird so gewählt, dass es nur den grünen bis gelben Teil des Spektrums durchlässt. Der blaue und violette Teil des Spektrums wird durch Anwendung monochromatischen Lichtes fast in seiner Gesamtheit zurückgehalten. Man wählt ein grünes oder besser gelbgrünes Filter, da zudem die orthochromatischen Platten für die gelbgrünen Strahlen ein Empfindlichkeitsmaximum aufweisen. Der weitere Vorteil der Anwendung eines Filters ist in der Färbung des mikroskopischen Präparates begründet. Man würde ein Bild mit den feinsten Einzelheiten erhalten, wenn alles was im Bilde erscheinen soll im Präparat mehr oder weniger schwarz gefärbt wäre. Da nun aber die Präparate meist Farben, meist blau oder rot aufweisen, die blaues Licht durchlassen, so muss man durch ein Farbenfilter diese Farben, ebenfalls in schwarz verwandeln. Man erreicht dies durch Anwendung eines Grünfilters, eines sogenannten Kontrastfilters. Betrachten wir nämlich einen solchen blauen oder roten Gegenstand durch ein grünes Filter, so erscheint derselbe schwarz, da diese Farben grünes Licht absorbieren. Die Kontrastfilter haben die Eigenschaft, nur bestimmte Spektralfarben ganz zu verschlucken, sie dienen dazu, bestimmte Farben des Aufnahmegegenstandes besonders hervorzuheben. Im Gegensatz hiezu absorbieren die sogenannten monochromatischen Filter mit Ausnahme einer Farbe, der Eigenfarbe, sämtliche Farben. Sie lassen nur das Licht einer bestimmten Farbe, z. B. rot, grün und blau durch. Die Kompensationsfilter haben im Gegensatz zu den beiden erstgenannten Filterkategorien die Aufgabe, nur bestimmte Farbstrahlen des Lichtes zu dämpfen, also nicht ganz zu verschlucken, mit Ausnahme des Ultraviolett, das durch sie meist ganz absorbiert wird. Die meisten Gelbfilter sind Kompensationsfilter. In der Mikrophotographie verwendet man sowohl flüssige als feste Filter, sog. Trockenfilter. Die ersteren haben gegenüber den Trockenfiltern den Vorzug, dass sie sich leicht in jeder beliebigen Konzentration herstellen lassen. Durch Hintereinanderstellen von zwei oder drei Flüssigkeitscuvetten lassen sich gleichzeitig verschiedene Lösungsmittel erfordernde, nicht mischbare Filterfarben verwenden. Der Nachteil der flüssigen Filter liegt aber in der etwas umständlichen Handhabung. Viel bequemer sind daher die festen Filter, bestehend aus gefärbten Gelatinefolien, die Gelatine-Glasfilter oder die in der Glasmasse gefärbten Filter. Die absolut planparallelen Agfa- und Lifa-Lichtfilter, die in allen Farbabstufungen hergestellt werden, sind heute jedem auf photographischem Gebiete Arbeitenden bekannt und sind in ihrer Anwendung auf die Mikrophotographie sehr zu empfehlen. Ein für Bogenlicht und die meisten in der Mikrophotographie gebräuchlichen elektrischen Lichtquellen sehr geeignetes flüssiges Farbfilter unter Benützung orthochromatischer Platten, ist das Zettnow'sche Filter. Dieses Grünfilter lässt ausschliesslich grüne und gelbe Strahlen von engbegrenzter Wellenlänge hindurch. Für Gasglühlicht und für Petroleumlicht, Lichtquellen, die gelegentlich in Ermangelung elektrischen Lichtes zur Beleuchtung herangezogen werden müssen, leistet auch das Pikrinsäurefilter gute Dienste. Das Petroleumlicht, das Gasglühlicht sind arm an violetten und blauen Strahlen. Diese Lichtquellen senden aber viel gelbe und grüne Strahlen aus, so dass man mit einem Gelbfilter zur Beseitigung der Fokusdifferenz auskommt. Gegenüber dem Zettnow'schen Filter hat das Pikrinsäurefilter den Vorzug, dass es bedeutend heller ist, was bei nicht sehr kräftigen Lichtquellen ins Gewicht fällt.

Das flüssige Lichtfilter nach Zettnow hat folgende Zusammensetzung:

Kupfervitriol .	٠.	•			٠.	j.	175	g
Kaliumbichromat					•		17	g
Schwefelsäure .							2	cm^3
Wasser						1.	500	$\rm cm^3$

Das Filter absorbiert alle blauen Strahlen bis E (Wellenlänge $527 \mu\mu$) bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 1 cm. Bei Zeisscuvetten mit einer Lichtweite von 3 cm muss die Flüssigkeitsschicht entsprechend dünner gewählt werden. Die Wahl des Filters hängt, wie bereits angedeutet wurde, nicht nur von der Färbung des zu photographierenden Präparates ab, sondern ebensosehr von der Art der zu verwendenden Lichtquelle. So gibt z. B. das Zeisswerk-Jena für die Quarz- bezw. Quecksilberdampflampe und für andere Lichtquellen wie Bogenlicht, Nernstlicht, Kalklicht, Grätzinlicht, folgende Flüssigkeitsfilter an, die in 3 cm dicker Filtercuvette zu verwenden sind:

- 1. Kaliumdichromatfilter,
- 2. Kupfervitriolfilter,
- 3. Pikrinsäure-Kupfervitriolfilter,
- 4. Didymfilter,
- 5. Kupferoxydammoniakfilter,
- 6. Chininsulfatfilter (stark),
- 7. Zettnow'sches Filter,
- 8. Chininsulfatfilter (schwach).

Diese Flüssigkeitsfilter werden je nach der Lichtquelle und je nach der Art der zu verwendenden Plattensorte (orthochromatische Platten oder gewöhnliche blau empfindliche Platten) einzeln oder hintereinander geschaltet und ergeben gelbes, grünes, gelbgrünes oder blaues Licht von ganz bestimmtem Wellenlängenbereich.

Die Lifa-Lichtbilder-Fabrik A. Schäfer in Augsburg verfertigt auch speziell für wissenschaftliche Zwecke Spezial-Lichtfilter (Mikrofilter) für die verschiedenen Spektralbezirke. Je nach der Färbung des Präparates kommt dann das eine oder andere dieser Filter zur Verwendung, wobei die zu verwendende Plattensorte berücksichtigt werden muss.

In der Mikrophotographie wird man an Stelle der hochempfindlichen Momentplatten mit Vorteil ein verhältnismässig unempfindliches, dafür aber klar arbeitendes Plattenmaterial aussuchen, das ausser für blaue, auch für gelbe und grüne Strahlen empfindlich ist.

Minder empfindliche Platten sollen schon deshalb verwendet werden, weil bei ihnen das Silberkorn sehr fein ist, dazu auch ein grösserer Belichtungsspielraum gegeben ist. Man verwendet womöglich am besten auch lichthoffreie Platten. Da bei den orthochromatischen Platten trotz der Grün- und Gelbempfindlichkeit die Blauempfindlichkeit noch bei weitem überwiegt, muss sie noch durch Einschaltung eines die blauen Strahlen zurückhaltenden Filters gedämpft werden. Bei intensiv rot gefärbten Präparaten oder verschiedenen Abstufungen in rot benützt man mit Vorteil die panchromatischen Platten unter Anwendung eines Rotfilters. Für Aufnahmen ohne Lichtfilter, die nur mit Apochromaten hergestellt werden sollen, lassen sich auch gewöhnliche Trockenplatten mit nicht zu hoher Empfindlichkeit gebrauchen. Für diesen Fall eignen sich besonders die stark deckenden und klar arbeitenden photomechanischen Platten, die man zur Reproduktion von Strichzeichnungen verwendet. Unter Umständen kann es jedoch von Vorteil sein mit einem Filter zu arbeiten, das nur blaues Licht durchlässt, nämlich dann, wenn das Auflösungsvermögen möglichst gesteigert werden soll. Als Blaufilter eignet sich dann das Kupferoxydammoniak. Um die ultravioletten Strahlen auszuschliessen, kann dem Kupferoxydammoniakfilter noch ein Chininsulfatfilter vorgeschaltet werden. Der grösste Teil der ultravioletten Strahlen wird übrigens durch die Linsen verschluckt. Will man diese kurzwelligen Strahlen zur Photographie verwenden, so müssen die Linsen der Objektive, die Kondensoren und die Objektträger aus Quarz hergestellt sein.

Ueber die Belichtungszeit lassen sich nur schwer ganz bestimmte Angaben geben, in Anbetracht der vielen Momente, die bei der Mikrophotographie in Frage kommen. Die Beurteilung der Expositionszeit wird sich meistens nach der Helligkeit des Mattscheibenbildes zu richten haben. In vielen Fällen sind Probeaufnahmen nicht zu umgehen. Der Goldbergkeil leistet hiezu gute Dienste. Das beste Mittel zur Beurtei-

lung der Belichtungszeit liegt darin, dass man sich die Mühe nimmt, über jede Aufnahme genau Buch zu führen mit den entsprechenden Bemerkungen über den Ausfall der Aufnahme. Bei Neuaufnahmen hat man dann immer die Möglichkeit, auf ähnliche Fälle zurückzugreifen, aus denen gleichzeitig mit der zunehmenden Erfahrung wertvolle Anhaltspunkte über die Belichtungszeit sich ergeben.

In Bezug auf Wahrheitstreue des Bildes ist die Mikrophotographie der Zeichnung besonders dann überlegen, wenn es sich darum handelt, die feinsten Struktureinzelheiten eines Objektes zur Darstellung zu bringen. Zudem fällt bei der photographischen Wiedergabe das subjektive Moment, das bei der Darstellung durch die Zeichnung eine oft nicht unwesentliche Rolle spielt, ohne weiteres weg. Es ist daher im allgemeinen nicht zulässig, bei einem mikrophotographischen Dokument ohne diesbezüglichen Hinweis eine Retouche vorzunehmen. Die Ueberlegenheit der Photographie gegenüber der Zeichnung kennzeichnet Robert Koch mit folgenden Worten:

«Ein anderer, vielleicht noch höher zu veranschlagender Nutzen der Photographie liegt in der strengen Kontrolle, zu welcher sie den Mikroskopiker seinen eigenen Beobachtungen gegenüber zwingt. Zeichnungen mikroskopischer Gegenstände sind fast niemals naturgetreu, sie sind immer schöner als das Original, mit schärferen Linien, kräftigeren Schatten als dieses versehen, und was macht nicht manchmal eine schärfere Linie oder ein dunklerer Schatten an geeigneter Stelle aus, um dem Bilde eine ganz andere Bedeutung zu geben Wer Zeichnungen von seinen mikroskopischen Untersuchungen veröffentlicht, der hat mit der Kritik kaum zu rechnen, denn die Zeichnung wird unwillkürlich schon im Sinne der subjektiven Anschauung des Autors angefertigt. Wer aber ein Photogramm veröffentlicht, der begibt sich damit jedes subjektiven Einflusses auf die Abbildung seines Präparates, er legt gewissermassen das Untersuchungsobjekt selbst seinem Publikum vor und lässt letzteres unmittelbar an seiner Beobachtung teilnehmen. Dieses Bewusstsein, das Untersuchungsobjekt im photographischen Bild vervielfältigt, der wissenschaftlichen Welt zur Kritik offen preisgeben zu müssen, zwingt den Mikroskopiker, sich über die Richtigkeit seiner Beobachtung wiederholt Rechenschaft zu geben und das Resultat seiner Untersuchung nicht eher an die Oeffentlichkeit zu bringen, als bis er seiner Sache ganz gewiss ist.»

Damit soll der Wert der zeichnerischen Darstellung in keiner Weise vermindert werden. Eine gute Zeichnung wird immer ihre volle Berechtigung beibehalten. Wir haben ja gesehen, dass die Möglichkeit der Anwendung der Photographie zur Darstellung mikroskopischer Objekte sogar ziemlich beschränkt ist, besonders dann, wenn die Präparate zu dick sind, so dass die Fehler der Bildwölbung und damit die Tiefenschärfe stark störend in Erscheinung treten. In solchen Fällen wird eben die Zeichnung wertvolle Dienste leisten. Aber auch dann, wenn für die Photographie ungeeignete Präparate vorliegen, was häufig vorkommt, wird

man auf die Wiedergabe durch Zeichnung angewiesen sein. Auch die Zeichnung übt einen erzieherischen Wert aus, indem sie den Beobachter zu eingehendem Studium seines Präparates zwingt. In manchen Fällen wird auch die Herstellung eines unvollkommenen Photogrammes gute Dienste leisten, indem man dieses als Grundlage für die hernach anzufertigende Zeichnung verwendet. Mehr als anderswo gilt auch auf diesem Gebiet der bildlichen Darstellung mikroskopischer Objekte der Grundsatz:

«Das eine tun und das andere nicht lassen».

Literatur.

- R. Neuhaus, Lehrbuch der Mikrophotographie, Leipzig, 1907 (Hirzel).
- K. Laubenheimer, Lehrbuch der Mikrophotographie, Berlin, Wien, 1920 (Urban & Schwarzenberg).
- C. Kaiserling, Die mikrophotographischen Apparate und ihre Handhabung, Stuttgart, 1919, Geschäftsstelle des «Mikrokosmos».
- H. Günther, Das Mikroskop und seine Nebenapparate, Stuttgart, 1918, Geschäftsstelle des «Mikrokosmos».
- R. Schmehlik, Die Anwendung des Mikroskops (Mikroskopie, Mikroprojektion und Mikrophotographie), Berlin, 1922 (Union Deutsche Verlagsgesellschaft).
- A. Ehringhaus, Das Mikroskop, seine wissenschaftlichen Grundlagen und seine Anwendung, Leipzig und Berlin, 1921 (Teubner).

Lifa-Lichtfilter-Handbuch, Augsburg, 1922 (A. Schäfer).

Leitz, Gebrauchsanweisung zum mikrophotographischen Apparat Uma, Wetzlar, 1925.

La conférence de Monsieur P. Dutoit, Prof. à l'Université de Lausanne, sur: «L'application des nouvelles théories physico-chimiques à la chimie des denrées alimentaires», paraîtra sous une forme élargie dans l'un des prochains cahiers de notre périodique. Red.